

PEMBUATAN BIOETANOL MENGGUNAKAN *Zymomonas mobilis* DARI LIMBAH TONGKOL JAGUNG

Albert^{1*}, Nora Idiawati¹, Rudiyanasyah¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak
e-mail: albert.wu90@gmail.com

ABSTRAK

Bioetanol adalah cairan yang dihasilkan dari proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat menggunakan bantuan mikroorganisme. Sampel tongkol jagung didelignifikasi terlebih dahulu menggunakan NaOH 10% selama 28jam, yang kemudian dihidrolisis menggunakan HClO₄ 30%. Kemudian sampel di fermentasi dengan mikroorganisme *Z. mobilis* menggunakan variasi pH 4, 5, dan 6 kemudian dengan waktu 4 hari, 5 hari, dan 6 hari. Kondisi optimum hasil fermentasi adalah dengan pH 5 dan pada hari ke-5. Pada kondisi optimum tersebut diperoleh randemen etanol sebesar 20% dan dengan kadar 100% yang diukur menggunakan alkoholmeter dan kromatografi gas-spektroskopi massa.

Kata Kunci : Tongkol Jagung, Bioetanol, Fermentasi, *Z. mobilis*.

PENDAHULUAN

Bioetanol adalah etanol yang dibuat dari biomassa yang mengandung pati dan selulosa seperti ubi kayu, ubi jalar, jagung, sagu, bonggol pisang serta tetes tebu (bagas). Dalam dunia industri, etanol umumnya digunakan sebagai bahan baku turunan alkohol, campuran untuk miras, bahan bakar, industri farmasi, dan campuran bahan bakar untuk kendaraan.

Proses fermentasi sering didefinisikan sebagai proses pemecahan karbohidrat dan asam amino secara anaerobik, yaitu tanpa memerlukan oksigen. Senyawa yang dapat dipecah dalam proses fermentasi terutama adalah karbohidrat, sedangkan asam amino hanya dapat difermentasi oleh beberapa jenis bakteri tertentu (Fardiaz, 1992). Prinsip dasar fermentasi adalah mengaktifkan kegiatan mikroba tertentu dengan tujuan mengubah sifat bahan agar menghasilkan suatu bahan yang bermanfaat. Perubahan tersebut karena dalam proses fermentasi jumlah mikroba diperbanyak dan diaktifkan metabolismenya dalam bahan tersebut dalam batas tertentu (Widayati dan Widalestari, 1996).

Sebelum fermentasi dilakukan, tongkol jagung harus melalui proses hidrolisis terlebih dahulu untuk menghasilkan glukosa yang dapat dimanfaatkan sebagai substrat dalam fermentasi. Hidrolisis merupakan salah satu tahapan yang sangat penting dalam

proses fermentasi etanol menggunakan limbah lignoselulosa. Hal ini dikarenakan pada proses hidrolisis jumlah kandungan gula menentukan pada proses fermentasi menghasilkan bioetanol. Secara tak langsung, kadar etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi berkaitan erat dengan keberhasilan proses hidrolisis.

Salah satu bakteri yang dapat menghasilkan etanol adalah *Z. mobilis*. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif yang dapat ditemukan pada tumbuh-tumbuhan yang kaya gula. Pada umumnya mempunyai panjang 2-6 µm dan lebar 1-1,4 µm. *Z. mobilis* merupakan bakteri anaerob fakultatif. Pemakaian bakteri *Z. mobilis* untuk industri pembuatan etanol mempunyai beberapa keuntungan antara lain kemampuan untuk tumbuh secara anaerob, hasil produksi lebih tinggi, dan kemampuan fermentasi lebih spesifik dibandingkan dengan khamir.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan kondisi optimum dalam pengolahan limbah tongkol jagung menjadi bioetanol, dan sekaligus dapat menjadi salah satu solusi dalam mengatasi permasalahan lingkungan dalam hal pengolahan limbah padat organik.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik OHAUS PAJI003, *Gas-Chromatography* GC-14B, oven, alat gelas, inkubator, kondensor, *bulb*, penangas air, pH-meter Hanna HI98107, statif, dan klem, alkoholmeter.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tongkol jagung, H_2O , batu didih, *Zymomonas mobilis*, $HClO_4$, NaOH, glukosa, *yeast extract*, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $(NH_4)_2SO_4$, KH_2PO_4 .

Cara Kerja

Preparasi Sampel

Tongkol jagung dipotong kecil-kecil kemudian digiling hingga halus. Tongkol jagung yang sudah halus kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu $100^\circ C$ selama 1 jam.

Delignifikasi (Fitriani dkk, 2013)

Serbuk tongkol jagung direndam dengan larutan NaOH dengan konsentrasi 10% selama 28 jam. Setelah itu, disaring menggunakan kain saring. Residu dicuci dengan air sampai pH 7 selanjutnya di masukkan dalam cawan petri dan di keringkan pada suhu $75^\circ C$ selama 48 jam.

Hidrolisis Sampel (Loebis, 2008)

Sampel dihidrolisis menggunakan larutan $HClO_4$ dengan perbandingan 1:10. Sampel ditimbang sebanyak 500 g kemudian dihidrolisis pada suhu $100^\circ C$ selama 1 jam dengan larutan $HClO_4$ konsentrasi 30% untuk menghasilkan gula pereduksi.

Regenerasi *Z. mobilis*

Z. mobilis ditumbuhkan pada media nutrient agar. Media yang telah diinokulasi ini kemudian diinkubasi pada suhu $30^\circ C$ selama 24 jam. Untuk memperkaya jumlah sel dalam proses fermentasi, dibuat media cair yang terdiri dari 100 g/L glukosa, 10 g/L *yeast extract*, 0.5 g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 g/L $(NH_4)_2SO_4$, dan 1 g/L KH_2PO_4 . Satu ose sel *Z. mobilis* dari agar kemudian dimasukkan ke dalam 10 mL larutan media cair dan diinkubasi selama 18 jam dengan dishaker pada kecepatan 120 rpm dan suhu $30^\circ C$.

Optimasi Fermentasi (Loebis, 2008)

Proses fermentasi dilakukan sebagai berikut : 500 ml hidrolisat hasil hidrolisis masing-masing diatur pH nya menggunakan larutan NaOH 20% (b/v) dengan variasi pH 4, 5, 6. Kemudian ditambahkan dengan 10% (v/v) inoculum *Z. mobilis* dan diinkubasi dengan variasi waktu 4, 5, dan 6 hari.

Destilasi Hasil

Proses destilasi dilakukan setelah fermentasi untuk mendapatkan bioetanol dengan tingkat kemurnian yang tinggi. Proses destilasi dilakukan dengan menggunakan alat destilasi uap, dengan mantel pemanas pada suhu $78^\circ - 80^\circ C$ selama 1 jam. Analisis hasil dilakukan dengan menggunakan alkoholmeter dan kromatografi gas spektroskopi masa (GC-MS).

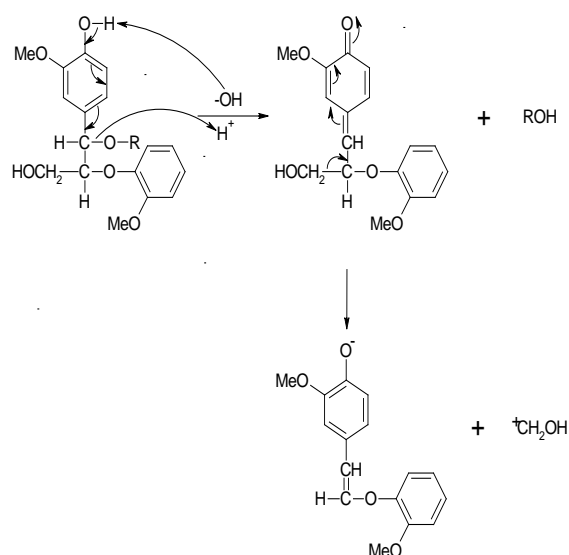
HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses awal dari preparasi limbah tongkol jagung yaitu pengeringan serat yang kemudian digiling hingga berbentuk serbuk. Hal ini bertujuan untuk memperbesar luas permukaan dari limbah tongkol jagung sehingga pada proses hidrolisis didapatkan gula pereduksi secara maksimal yang berakibat dari semakin banyaknya tumbukan antar partikel zat yang bereaksi. Tandan kosong yang telah dihaluskan kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu $100^\circ C$ selama 2 jam. Hal ini bertujuan agar limbah tongkol jagung tidak menjadi lembab. Pada kondisi lembab limbah tongkol jagung akan mudah ditumbuhi mikroorganisme yang tidak diinginkan.

Langkah selanjutnya dalam preparasi sampel adalah delignifikasi. Proses delignifikasi dalam keadaan basa bertujuan untuk memisahkan selulosa dan lignin. Ion OH^- dari NaOH akan memutuskan ikatan-ikatan dari struktur dasar lignin sehingga lignin akan mudah larut. Adapun reaksi pemutusan unit-unit lignin oleh NaOH ditunjukkan pada Gambar 1.

Hidrolisis dengan asam pekat merupakan teknik yang sudah dikembangkan cukup lama. Hidrolisis asam pekat menghasilkan gula yang tinggi (90% dari hasil teoritik) dibandingkan dengan hidrolisis dengan asam encer, dan dengan demikian akan menghasilkan etanol yang lebih tinggi. Hidrolisis asam dapat dilakukan pada suhu rendah. Namun demikian, konsentrasi asam

yang digunakan sangat tinggi yaitu berkisar antara 30% sampai 70%. Proses ini sangat korosif karena adanya pengenceran dan pemanasan asam kuat.



Gambar 1. Mekanisme pemutusan unit-unit lignin oleh nukleofil OH^- (Suryati, 2008)

Penelitian ini dilakukan dengan hidrolisis menggunakan asam perklorat (HClO_4) dengan konsentrasi 30%. Hidrolisis dilakukan selama 1 jam pada suhu 100°C . Sampel yang dihidrolisis sebanyak 500gr dan asam perklorat yang digunakan sebanyak 5L dengan perbandingan 1 : 10. Secara teori asam kuat adalah asam yang terionisasi secara sempurna dalam air dan menghasilkan suatu proton (H^+) yang ditransferkan ke dalam molekul air. Proton dari asam akan berinteraksi cepat dengan oksigen pada ikatan glikosida yang menghubungkan antar gula. Menurut Fengel dan Wagener (1995) langkah ini diikuti dengan pemecahan yang lambat dari ikatan C-O menghasilkan zat antara kation karbonium siklis. Akhirnya kation karbonium mulai mengadisi molekul air dengan cepat, membentuk hasil akhir (glukosa) yang stabil dan melepaskan proton.

Hidrolisat yang dihasilkan dari proses hidrolisis dengan menggunakan HClO_4 30%, merupakan larutan asam yang menghasilkan kandungan gula pereduksi tertinggi. Hidrolisat selanjutnya digunakan sebagai substrat pada proses fermentasi. Optimasi proses fermentasi pada penelitian ini difokuskan pada pH dan waktu fermentasi. Variasi pH yang dilakukan pada 4, 5, dan 6. Sedangkan

lamanya waktu fermentasi dilakukan selama 4, 5, dan 6 hari.

Setelah proses fermentasi selesai, maka dilanjutkan dengan proses destilasi yang bertujuan untuk memisahkan etanol hasil fermentasi. Etanol didestilasi pada rentang suhu $76 - 80^\circ\text{C}$ karena etanol memiliki titik didih 78°C . Destilasi merupakan teknik pemisahan berdasarkan perbedaan titik didih dari masing-masing zat penyusun campuran, dimana cairan yang memiliki titik didih lebih rendah akan keluar terlebih dahulu.

Etanol hasil destilasi kemudian diukur randemennya menggunakan alat alkoholmeter. Hasil pengukuran dari alkoholmeter dapat dilihat pada Tabel 4.1. Setelah didapat data kadar etanol, maka variasi etanol dengan kadar tertinggi yaitu pada hari ke-5 dengan pH 5 diukur kadarnya menggunakan *gas-chromatography*.

Tabel 1. Hasil pengukuran menggunakan Alkoholmeter

Variasi pH dan waktu	Uji 1	Uji 2	Rata-rata
pH 4, 4hari	6%	5%	5.50%
pH 4, 5hari	10%	10%	10%
pH 4, 6hari	8%	6%	7%
pH 5, 4hari	15%	12%	13.50%
pH 5, 5hari	20%	20%	20%
pH 5, 6hari	15%	13%	14%
pH 6, 4hari	7%	6%	6.50%
pH 6, 5hari	4%	4%	4%
pH 6, 6hari	8%	8%	8%

Hasil optimum pada penelitian ini pada variasi pH 5 dan hari ke- 5 dengan berat randemen 93.207 % dan kadar etanol 20 %. Hasil tersebut sesuai dengan Siti Muslihah (2012) yang menunjukkan bahwa bakteri *Z. mobilis* akan bekerja optimum pada pH 5 dan menurut Dwi Reniati (2009) menunjukkan bahwa *Z. mobilis* bekerja maksimal pada hari ke- 4 sampai hari ke- 6 dan akan kehilangan aktivitasnya pada hari ke- 7. Hal tersebut ditunjukkan pada hasil penelitian dengan kondisi optimum pada pH 5 dan hari ke-5.

Selama ini proses pembuatan bioetanol banyak menggunakan bakteri *S. cerevisiae* yang telah lama dikenal sebagai

mikroorganisme yang umum digunakan dalam pembuatan etanol (Panesar dkk., 2006). Penelitian yang sekarang difokuskan pada bakteri gram negatif dan fakultatif anaerob, *Z. mobilis* yang berpotensi sebagai alternatif untuk produksi etanol. Bakteri ini memiliki kelebihan dibandingkan *S. cerevisiae*, diantaranya produktivitas etanol 3-5 kali lebih tinggi dengan *yield* etanol secara teoritis sebesar 97%, toleran terhadap kadar gula tinggi, dan waktu fermentasi yang lebih cepat karena konsumsi gula yang lebih cepat dibandingkan *S. cerevisiae* (Sprenger, 1996; Gunasekaran dan Raj, 1999; Glazer dan Nikaido, 2007). Hal tersebut ditunjukkan dengan penggunaan bakteri *Z. mobilis* mendapatkan hasil berat randemen sebesar 93.207 % dan kadar 20%. Sedangkan pada penelitian Yonas (2012), kadar etanol optimum adalah sebesar 5.34 % menggunakan bakteri *S. cerevisiae* dengan sampel yang sama yaitu limbah tongkol jagung.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa waktu fermentasi optimum untuk limbah tongkol jagung dengan bakteri *Z. mobilis* adalah pada hari ke- 5 dengan pH 5. Kadar etanol yang diperoleh adalah sebesar 20% dengan randemen sebesar 93.207%.

DAFTAR PUSTAKA

- Dwi Reniati, 2009, Produksi Etanol Menggunakan *Zymomonas mobilis* yang diamobilisasi oleh Ca-Alginat, Jurusan Kimia Fakultas MIPA ITS, Surabaya, (skripsi).
- Fardiaz, S., 1992, Mikrobiologi Pangan 1, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Fengel, D. Wegner, G., 1995, Kayu Kimia, Ultrastruktur dan Reaksi, Gajah Mada Press, Yogyakarta.
- Fitriani, Syaiful, B., dan Nurhaeni, 2013. Produksi Bioetanol Tongkol Jagung (*Zea Mays*) dari Hasil Proses Delignifikasi. Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Palu. *Journal of Natural science*, 2(3): 66-74
- Glazer, A. N., Nikaido, H., 2007, Microbial Biotechnology Fundamentals of Applied Microbiology, 2nd edition, Cambridge University Press, New York.
- Gunasekaran, P., Raj, K. C., 1999, Ethanol Fermentation Technology *Zymomonas mobilis*, *Current Science* (77):56-68.
- Kim, W.K., Choi, D.J., Chun, U.H., 1991, Continuous Production of sorbitol with permeabilized *Zymomonas mobilis* immobilized in alginate and chitin, *Korean J Biotechnol Bioeng* 5(3): 223-227
- Loebis, E. H., 2008, Optimasi proses hidrolisis kimiawi dan enzimatis tandan kosong kelapa sawit menjadi glukosa untuk produksi etanol, Institut Pertanian Bogor, Bogor, (skripsi).
- Pannesar, P. S., Marwaha, S. S., Kenedy, J. F., 2007, Comparison of Ethanol and Temperatur Tolerance of *Zymomonas mobilis* strain in Glucose and Mollases Medium, *J Biotechnol*, (6):74-77.
- Siti Muslihah, 2012, Produksi Bioetanol dari Limbah Tongkol Jagung sebagai Alternatif Energi Terbarukan, ITS, Surabaya, (skripsi).
- Sprenger G. A., 1996, Carbohydrate metabolism in *Zymomonas mobilis*: A Catabolic Highway with Some Scienic Routes. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters* 145(3):301-307.
- Suryati, 2008, Pembuatan Selulosa Asetat dari Limbah Serbuk Gergaji Kayu dan Identifikasinya, Institut Teknologi Bandung, Program Pasca Sarjana, Bandung, (Tesis).
- Widyawati, E., Widalestari, Y., 1996, Limbah untuk Pakan Ternak, PT. Trunus Agrisarana, Surabaya.
- Yonas, M. I., Isa, I., Iyabu, H., 2012, Pembuatan Bioetanol Berbasis Sampah Organik Batang Jagung, Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Gorontalo, (skripsi).